

## 一般演題

### 1. 神経興奮を調節する特殊なアストロサイトサブタイプと TRPV4 チャンネル

水野 早紀, 石崎 泰樹, 柴崎 貢志

(群馬大院・医・分子細胞生物学)

我々は温度感受性 TRP チャンネルに属する TRPV4 (活性化温度閾値: 34°C以上) が海馬に高発現しており, 脳内温度を介して海馬神経細胞の興奮性を向上させていることを見いだしている (J. Neurosci 2007). 脳組織標本を詳しく解析したところ, 神経細胞の他, アストロサイトにも TRPV4 発現を認めた. 非常に興味深いことに, アストロサイトの中に, TRPV4 陽性と陰性の二種類の細胞が存在しており, TRPV4 陽性アストロサイトは約 20% 程度のマイナーなサブタイプを構成していた. この結果は, TRPV4 の発現を指標にアストロサイトのサブクラスを分類できる可能性を示唆している. さらに, TRPV4 陽性アストロサイトは TRPV4 の活性化に伴い, グリोटランスミッターを遊離し, 周りのアストロサイトに興奮を伝播していることを突き止めた (JBC 2014). このようなアストロサイトからの情報伝達物質の遊離は, アストロサイト TRPV4 の活性化→周囲のアストロサイトの興奮→神経細胞の興奮/抑制というカスケードが存在する可能性を強く示唆しており, 神経-グリアの機能連関を調べるのに TRPV4 が非常に有用なツールであることを強く示唆している.

アストロサイトにおける TRPV4 の局在や神経活動増加に伴うアストロサイト TRPV4 のダイナミックな局在変化などの最新データも交え, アストロサイトに発現する TRPV4 の特徴を紹介し, その生理学的意義を議論したい.

### 2. サイトメガロウイルス角膜内皮炎の *in vitro* 感染モデルの確立と感染様式の検討

細貝 真弓,<sup>1,2</sup> 井上 照基,<sup>1,3</sup> 島 伸行<sup>4</sup>

中谷 陽子,<sup>1</sup> 松島 千賀,<sup>1</sup> 秋山 英雄<sup>2</sup>

岸 章治,<sup>2</sup> 磯村 寛樹<sup>1</sup>

(1 群馬大院・医・分子予防医学)

(2 群馬大医・附属病院・眼科)

(3 群馬大院・医・病態制御内科学)

(4 東京大学大学院医学系研究科眼科学)

【目的と意義】 角膜内皮炎は, 角膜の透明性維持に必要な角膜内皮の炎症によって, 角膜の浮腫と混濁を生じる重症疾患である. 近年, ヒトサイトメガロウイルス (HCMV) による角膜内皮炎が報告されているが, 病態の詳細は不明である. HCMV の感染様式には, ウイルス粒

子の産生が停止した潜伏感染と, ウイルス増殖に必要な遺伝子が発現しウイルス粒子が産生される溶解感染がある. そこで, 角膜内皮細胞での HCMV の感染様式を検討した. 【材料と方法】 ヒト角膜内皮細胞 (HCEC; human corneal endothelial cells) は研究用ヒト角膜から採取し培養した. ウイルス株は臨床分離株由来の TB40E を用いた. 溶解感染では最初に HCMV 前初期遺伝子が, 次にウイルス DNA 複製に必要な初期遺伝子が, 最後にウイルス粒子を構成する後期遺伝子が発現する. そこで HCEC と, HCMV が溶解感染することが知られているヒト胎児包皮繊維芽細胞 (HFF; human foreskin fibroblast) に TB40E を感染させ, 前初期, 初期, 及び後期ウイルス蛋白の発現を Western blot 法で, ウイルスゲノムの複製を real-time PCR 法で調べた. さらに, ウイルス DNA ポリメラーゼ付随因子 UL44 に対する抗体を用いて, 共焦点レーザー顕微鏡で HCMV 感染細胞核内に「ウイルス複製の場」が形成されるかどうかを観察した. 【結果】 HCEC, HFF とともに, HCMV 前初期, 初期, 及び後期蛋白の発現を認め, 前初期 IE86 と初期 UL44 蛋白は感染 2 日後の HCEC でより多く発現していた. 感染 3 日後にはウイルス複製の場の形成とウイルスゲノムの複製を認め, HCEC でより効率的であった. 【考察】 HCEC に HCMV が非常に効率よく溶解感染した. この結果より, HCMV 角膜内皮炎は角膜内皮細胞に HCMV が溶解感染することで引き起こされると考えられた.

### 3. 群馬大学における多光子励起レーザー顕微鏡の運用実例

高鶴 裕介,<sup>1</sup> 金子 涼輔,<sup>2</sup> 鯉淵 典之<sup>1</sup>

(1 群馬大院・医・応用生理学)

(2 群馬大院・生物資源センター)

近年の光学技術の進歩により, フェムト秒パルスレーザーを発生することのできるチタンサファイアレーザーを搭載した多光子励起レーザー顕微鏡 (Multiphoton laser microscopy; MPLM) による研究が盛んになってきている. MPLM は, 生体に与えるダメージを最小限に抑えつつ, 深部の構造物を観察できるという特徴を持っている. このため特に, 遺伝子改変技術などを組み合わせた *in vivo* imaging に適しており, これまでわからなかった多くの生命現象がリアルタイムで観察できるようになってきている. 群馬大学においても昨年末にこの MPLM が共通機器として導入され, 今年度より正式運用となった. 群馬大学に導入された MPLM はオリンパス